

Impacto en salud pública y patogénesis molecular de la enfermedad neumocócica

José Yuste, Fernando González-Camacho y Mirian Domenech

Unidad de Neumococos. Laboratorio de Referencia e Investigación en Enfermedades Bacterianas Prevenibles por Vacunas.
Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Ctra Majadahonda-Pozuelo Km 2. 28220. Majadahonda, Madrid.

jyuste@isciit.es
fgonzalezc@isciit.es
mdomenech@isciit.es



Miembros del laboratorio (de izquierda a derecha):
José Yuste, Idoia del Río, Beatriz López, Julio Sempere, Mirian Domenech, Fernando González, María Dolores Vicioso.

El Laboratorio de Referencia de Neumococos (LRN) se dedica desde el año 1979 a la vigilancia microbiológica de *Streptococcus pneumoniae*, analizando los serotipos, genotipos y la resistencia antibiótica de los aislados clínicos de neumococo que se reciben en el laboratorio, procedentes de hospitales de las distintas comunidades autónomas. Desde entonces, se han identificado y caracterizado cerca de 85.000 aislados clínicos invasivos de neumococo que están disponibles en nuestra colección de cepas. Todos los años notificamos los casos de enfermedad neumocócica invasiva a Europa a través del ECDC siendo el tercer país europeo que más casos notifica. El LRN está coordinado por el Dr. José Yuste y se subdivide en dos unidades; por un lado, la parte diagnóstica y epidemiológica formada por tres ayudantes de investigación (María Dolores Vicioso, Idoia

del Río y Beatriz López) y la parte de investigación, formada por el Dr. Fernando González Camacho, la Dra. Mirian Domenech y Julio Sempere que está realizando su Tesis Doctoral. A continuación, se exponen las principales líneas de investigación del laboratorio.

INVESTIGACIÓN EN EPIDEMIOLOGÍA Y SALUD PÚBLICA

S. pneumoniae es el principal agente etiológico de las neumonías adquiridas en la comunidad y uno de los principales responsables de sepsis y meningitis bacteriana no epidémica afectando principalmente a la población pediátrica y a los adultos mayores de 65 años. Nuestro laboratorio participa en la caracterización de las cepas circulantes (serotipo, genotipo y sensibilidad antibiótica)

aportando información muy valiosa al sistema nacional de salud sobre la epidemiología de neumococo que es esencial para la detección precoz de clones y serotipos emergentes que puede ser de gran utilidad para evaluar el impacto de las actuales y futuras vacunas disponibles. Entre las técnicas utilizadas destaca la caracterización de neumococos mediante *dot blot* con antiseros, MLST y PCR-secuenciación de genes capsulares.

MECANISMOS MOLECULARES DE PATOGENICIDAD

Desde hace varios años, nuestro laboratorio está enfocado en el estudio de los mecanismos moleculares relacionados con las diferentes etapas del proceso infeccioso entre las que destacan la colonización del

tracto respiratorio superior, el establecimiento de la neumonía y su diseminación, produciendo enfermedad invasiva. Para lograr estos objetivos, nuestro laboratorio utiliza mutantes en diversos factores de virulencia, líneas celulares epiteliales, células fagocitarias (macrófagos y neutrófilos) así como ratones deficientes en receptores importantes del sistema inmune del huésped. Para poder abordar estos estudios se utiliza la citometría de flujo y la microscopía confocal como principales técnicas metodológicas

BÚSQUEDA DE ANTÍGENOS VACUNALES BASADOS EN PROTEÍNAS CONSERVADAS

Las actuales vacunas disponibles están basadas en polisacáridos capsulares que pueden estar conjugados o no a una proteína transportadora. Debido a la elevada variabilidad de neumococo (99 serotipos), la limitación en el número de serotipos que pueden ser incluidos en una vacuna polisacáridica y el fenómeno de reemplazo de serotipos, se estudian vacunas alternativas a las actuales. En nuestro grupo estamos caracterizando el papel protector de algunas proteínas de superficie que están muy conservadas. En el año 2016 demostramos que la vacunación con la proteína LytB es capaz de proteger frente a la sepsis y la neumonía incluyendo al serotipo 3 que tiene una elevada cápsula y de hecho, fue seleccionado en los *highlights* de la revista.

IMPORTANCIA DE LOS BIOFILMS DE NEUMOCOCO EN LA PATOGENESIS Y LETALIDAD

Una de las líneas en la que nuestro laboratorio está interesado se basa en el estudio de los biofilms neumocócicos desde la perspectiva de salud pública analizando su impacto en la virulencia de los serotipos emergentes. Con la incorporación de la Dra. Domenech, experta en biofilms bacterianos, estamos analizando la relación entre la letalidad por serotipos y su capacidad de formación de biofilms ya que la formación de biofilm permite a la bacteria evadir el sistema inmune así como

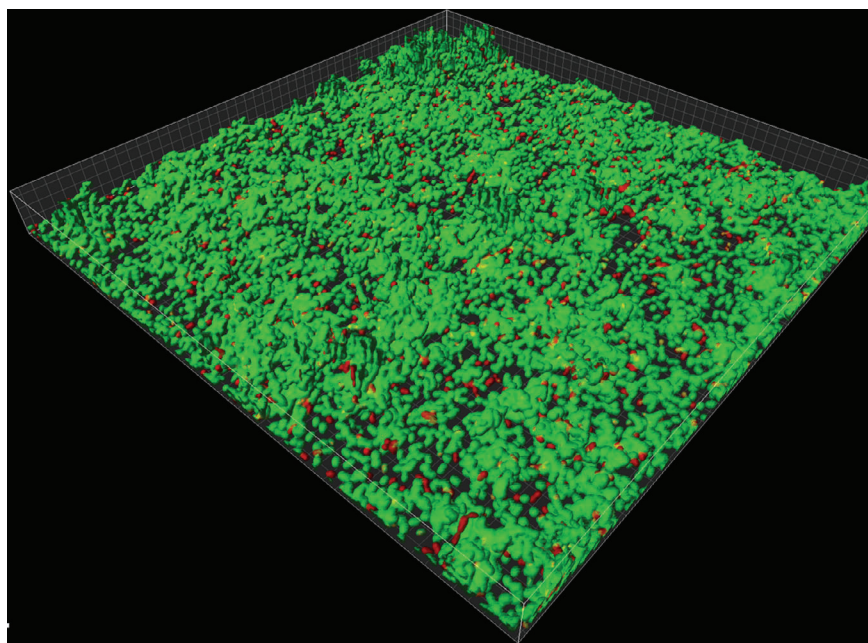


Fig. 1. Visualización de un biofilm neumocócico por microscopía confocal. Tinción con Syto9 de bacterias vivas (verde) y con ioduro de propidio de bacterias muertas (rojo).

desarrollar elevados niveles de resistencia antibiótica.

BIBLIOGRAFÍA RELEVANTE DE LAS DIFERENTES LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Domenech M, Sempere J, de Miguel S, Yuste J.

Combination of antibodies and antibiotics as a promising strategy against multidrug-resistant pathogens of the respiratory tract. *Front Immunol.* 2018; 9:2700.

Letrado P, Corsini B, Díez-Martínez R, Bustamante N, Yuste JE, García P. Bactericidal synergism between antibiotics and phage endolysin Cpl-711 to kill multidrug-resistant pneumococcus. *Future Microbiol.* 2018; 13:1215-1223.

Corsini B, Díez-Martínez R, Aguinagalde L, González-Camacho F, García-Fernández E, Letrado P, García P, Yuste J. Chemotherapy with Phage Lysins Reduces Pneumococcal Colonization of the Respiratory Tract. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018 25;62 (6).

Corsini B, Aguinagalde L, Ruiz S, Domenech M, Antequera ML, Fenoll A, García P, García E, Yuste J. Immunization with LytB protein of *Streptococcus pneumoniae* activates complement-mediated phagocytosis and induces protection against pneumonia and sepsis. *Vaccine.* 2016; 34 (50):6148-6157.

Ramos-Sevillano E, Urzainqui A, de Andrés B, González-Tajuelo R, Domenech M, González-Camacho F, Sánchez-Madrid F, Brown JS, García E, Yuste J. PSGL-1 on leukocytes is a critical compo-

nent of the host immune response against invasive pneumococcal disease. *PLoS Pathog.* 2016;12 (3): e1005500.

Aguinagalde L, Corsini B, Domenech A, Domenech M, Cámara J, Ardanuy C, García E, Liñares J, Fenoll A, Yuste J. Emergence of amoxicillin-resistant variants of Spain^{9V}-ST156 pneumococci expressing serotype 11A correlates with their ability to evade the host immune response. *PLoS One.* 2015;10 (9): e0137565.

Aguinagalde L, Díez-Martínez R, Yuste J, Royo I, Gil C, Lasa I, Martín-Fontecha M, Marín-Ramos NI, Ardanuy C, Liñares J, García P, García E, Sánchez-Puelles JM. Aurafinofin efficacy against MDR *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* infections. *J Antimicrob Chemother.* 2015; 70(9): 2608-17

Ramos-Sevillano E, Urzainqui A, Campuzano S, Moscoso M, González-Camacho F, Domenech M, Rodríguez de Córdoba S, Sánchez-Madrid F, Brown JS, García E, Yuste J. Pleiotropic effects of cell wall amidase LytA on *Streptococcus pneumoniae* sensitivity to the host immune response. *Infect Immun.* 2015; 83 (2): 591-603.

Domenech M, Damian D, Ardanuy C, Liñares J, Fenoll A, García E. Emerging non-PCV13 serotypes 11A and 35B of *Streptococcus pneumoniae* show high potential for biofilm formation *in vitro*. *PLoS One.* 2015; 10(4): e0125636.

Domenech M, Ramos-Sevillano E, García E, Moscoso M, Yuste J. Biofilm formation avoids complement immunity and phagocytosis of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun.* 2013; 81:2606-15.